

细胞处理用核酸酶 (Nuclease for Cell Treatment, NCT)

细胞处理用核酸酶 (NCT)，是一款用 *pichia* 酵母系统重组表达的核酸酶。该核酸酶的反应条件非常广泛，且在近生理条件下表现出最优活性，如 pH 7.2-8.6、盐浓度 130-200mM。这一特征，使该酶非常适合活细胞处理相关的应用，如 PBMC 解冻后分选、组织解离成单细胞等过程，消化破碎细胞释放的核酸，从而阻止细胞团聚、降低细胞粘附，便于细胞处理后的下游应用；同时，降低核酸酶使用量，最大程度减少对细胞培养的影响。

NCT 核酸酶是一种内切核酸酶，催化剪切磷酸二酯键以产生具有 5'-磷酸末端的聚核苷酸。该酶催化剪切 DNA 和 RNA，但偏好 DNA。在生理条件下，NCT 的 RNase 活性几乎丧失。加热或还原剂 (DTT, TCEP) 都能让 NCT 不可逆失活；加入 EDTA 等螯合剂，去除 Mg^{2+} 能够让 NCT 可逆失活。

优势

1. 重组表达制备，纯度 $\geq 99\%$ ，减少未知杂质对细胞的影响；
2. 无蛋白酶活性，无菌无内毒素，不影响后续细胞培养；
3. 在细胞培养条件下，NCT 核酸酶活性更高、用量更少，减少对细胞的影响；
4. EDTA/EGTA 等螯合剂可逆失活 NCT 核酸酶，DTT/TCEP 等还原剂不可逆灭活该酶。

应用

1. 在 PBMC 解冻后流式分选中，能减少或阻止细胞聚团；
2. 在组织解离成单细胞应用中，如干细胞提取、类器官培养等应用，能阻止细胞聚团。

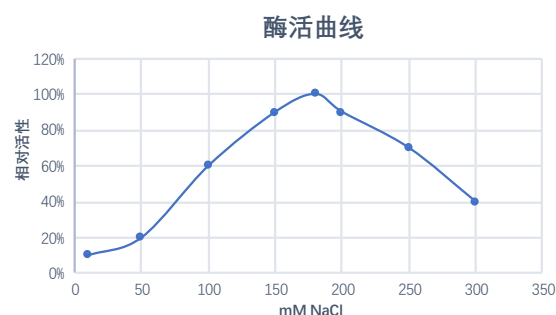


图 1. NCT 核酸酶在 130-200 mM NaCl 盐浓度条件下有很高活性。反应条件: 25mM Tris-HCl pH 7.4 at 37°C, 2.5 mM $MgCl_2$, 50 $\mu g/ml$ Calf thymus DNA, 37°C 反应。

使用建议

推荐向细胞悬液中加入 NCT 核酸酶，最终浓度 100 U/ml，室温孵育 15 分钟即可开展后续实验。

酶活定义

在 37°C，pH 7.6，25 mM Tris-HCl、150 mM NaCl、2.5 mM MgCl₂ 反应体系中，一个单位的 NCT 核酸酶在 30 分钟内可将鲑鱼精子 DNA 消化成 1.0 OD₂₆₀ 的酸可溶寡核苷酸。

酶比活>3.2 x 10⁵ units/mg，相当于 7.4 x 10⁵ Kunitz units/mg，是高纯度 DNase I 比活（约为 25,000 Kunitz units/mg）的 30 倍；是 DNase I（sigma, D4527）（酶比活> 2000 units/mg）的 160 倍。

储存条件

1. NCT 母液 buffer 含：pH 7.0 25mM Bis-Tris, 5mM MgCl₂, 150mM NaCl, Tween 20 0.05% (v/v), Glycerol 50% (v/v)。
2. 建议储存在-20°C，稳定保存 2 年以上；室温放置 30 天，活性降低仅 10%；能耐受-80 度冻融 5 次而不影响活性。

订购信息

货号	描述	规格	储存条件	运输条件
EN1001005	细胞处理用核酸酶（NCT 核酸酶）	5 KU	-20°	2-8°
EN1001025	细胞处理用核酸酶（NCT 核酸酶）	25 KU	-20°	2-8°